

THESIS

MARBURG

1965

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg

Direktor: Professor Dr. F. Hartmann

**Die Lokalisation der Eigenschaft Gm(a)
auf Bruchstücken
normaler Gamma-Globuline**

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE,
PALO ALTO, CALIF.

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

**in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn**

vorgelegt von

Bernward Winkelhoff

aus Paderborn

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg

Direktor: Professor Dr. F. Hartmann

**Die Lokalisation der Eigenschaft Gm(a)
auf Bruchstücken
normaler Gamma-Globuline**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von

Bernward Winkelhoff

aus Paderborn

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 15.6.1965

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Dekan: Prof. Dr. H. Hensel

Referent: Doz. Dr. H. Deicher

Correferent: Prof. Dr. G.G. Wendt

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I Einleitung	1 - 4
II Material und Methoden	5 - 10
III Ergebnisse	11 - 17
IV Besprechung der Ergebnisse	18 - 21
V Zusammenfassung	22
VI Literaturverzeichnis	23 - 27
VII Lebenslauf	28
VIII Verzeichnis meiner akademischen Lehrer	29



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren sind eine Reihe erblicher Polymorphismen menschlicher Serumeiweißkörper beschrieben worden. Dazu gehören die Haptoglobingruppen (42), die Gc-Komponenten (30), die Transferringruppen (43, 44), die Lipoproteinvarianten (1, 2), sowie die Gm-Gruppen. Bei den letzteren handelt es sich um einfach dominant vererbte Merkmale der γ -Globuline, d.h. der Antikörperproteine des menschlichen Serums. Grubb (23) entdeckte 1956, daß die Agglutination von humanen Rh-positiven Erythrozyten, welche mit einem individuellen, incompletten Anti-D-Serum sensibilisiert waren, durch ein ausgesuchtes Serum eines Patienten mit primär chronischer Polyarthrititis, nicht durch alle, sondern nur durch einen bestimmten Prozentsatz menschlicher Seren gehemmt werden konnte. Da diese Eigenschaft elektrophoretisch im γ -Globulinbereich lokalisiert werden konnte, nannte er sie "Gm". Er konnte nachweisen, daß diese Eigenschaft in einem einfach dominanten Erbgang vererbt wurde. Eine Reihe von Autoren haben dann in den nächsten Jahren mehrere γ -Globulineigenschaften dieser Art beschrieben. Sie sind in der folgenden Zusammenstellung aufgeführt:

Gm(a)	Grubb 1956	(23)
Gm(b)	Harboe 1959	(26)
Gm(x)	Harboe und Lundevall 1959	(25)
Gm(like)	Steinberg, Gibs und Stauffer 1960	(45)
Gm(r)	Brandtzaeg, Fudenberg und Mohr 1961	(3)
Gm(D)	Thomas und Kampf 1961	(48)
InV(a)	Ropartz, Lenoir und Rivat 1961	(38)
InV(b)	Steinberg, Wilson und Lanset 1962	(46)
Gm(e)	Ropartz, Rivat und Rousseau 1962	(39)
InV(1)	Ropartz, Rivat und Rousseau 1962	(39)
Gm(p)	Waller und Hughes 1963	(49)

Diese γ -Globulingruppen lassen sich, wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, zwei Systemen, dem sogenannten Gm-System und dem sogenannten InV-System, zuordnen. Durch formalgenetische Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß die Gm-Gruppen durch allele Gene eines Genortes, die InV-Gruppen durch allele Gene eines anderen Genortes unabhängig voneinander vererbt werden. Die Gm-Gruppen Gm(e), Gm(D) und Gm(p), sowie die InV-Gruppe InV(1) wurden bisher nur von den Entdeckern beschrieben, während über die übrigen Gruppen bereits eine umfangreichere Literatur vorliegt. Die Zuordnung der Gruppe Gm(like) zum Gm-System ist nach den bis heute vorliegenden Untersuchungen noch nicht als gesichert anzunehmen, insbesondere deshalb, weil diese Eigenschaft ausschließlich bei Angehörigen der negroiden Rasse vorkommt (45).

Zu einem Agglutinationshemmungssystem, welches zur Bestimmung der Gm-Gruppen verwandt wird, gehören folgende Bestandteile:

1. ein individuelles, inkomplettes Anti-D Antiserum, welches die Gruppeneigenschaft, die getestet werden soll, selbst aufweist;
2. ein Anti-Gm-Antikörper. Diese Antikörper finden sich besonders häufig in Seren von Patienten mit primär-chronischer Polyarthritits, wobei sie ebenso wie die Rheumafaktoren zu den γ_{Hh} -Globulinen gehören. Es handelt sich um Rheumafaktoren besonderer Spezifität (10). Daneben kommen Antikörperproteine mit Anti-Gm-Spezifität aber auch in einzelnen Normalseren sowie bei Patienten, welche multiple Transfusionen (33) erhalten haben, vor;
3. das zu testende Probandenserum, welches in einer geeigneten Verdünnung dem System zugesetzt wird.

Die einzelnen Gm-Gruppen zeigen in verschiedenen Ländern eine charakteristische Verteilung. Nach einer kürzlich

veröffentlichten Arbeit von R o p a r t z und Mitarbeitern (40) findet sich in Europa folgende Verteilung einiger Faktoren:

Land ^{†)}	Gm(a+)	Gm(b+)	Gm(x+)	InV(a)
Finnland	58,12%	85,18%	26,87%	11,11%
Frankreich	54,80%	87,14%	22,03%	16,10%
Deutschland	44,27%	92,37%	17,56%	11,49%
Tschechoslowakei	46,11%	95,31%	11,92%	12,10%
Jugoslavien	37,58%	96,20%	14,65%	14,65%
Griechenland	32,66%	96,63%	3,37%	17,17%

^{†)} In der Tabelle wurden einige Umstellungen vorgenommen um deutlicher hervorzuheben, wie die Verteilung nach Prozentzahlen sich, abhängig von der geographischen Breite, ändert.

In Westdeutschland konnte nach D e i c h e r und Mitarbeitern (8) sowie W e n d t und Mitarbeitern (50) für die Gruppen Gm(a), Gm(b), Gm(r) und Gm(x) die folgende Verteilung ermittelt werden:

	Gm(a)	Gm(b)	Gm(x)	Gm(r)
positiv	50,5	92,2	19,6	41,9
negativ	49,5	7,8	80,4	58,1
n	1666	270	526	337

Durch die Kombination von proteinchemischen und immunologischen Methoden gelang es mehreren Autoren kürzlich, verschiedene Gm- und InV-Gruppen auf verschiedene Anteile des γ -Globulinmoleküls zu lokalisieren (6, 17, 28). Durch Papain-Hydrolyse wurde dabei das γ -Globulinmolekül in die sogenannten "S"- und "F"-Komponenten zerlegt (11, 15, 35) und diese anschließend durch Chromatographie getrennt. Dabei wurden die Gruppeneigenschaften Gm(a), Gm(b), Gm(x) und Gm(r) auf der "F"-Komponente des γ -Globulins lokalisiert, während die InV-Gruppen InV(a) und InV(b) auf der "S"-Komponente des γ -Globulins gefunden wurden. Da diese Untersuchungen an Myelomseren und einer relativ geringen Zahl von Normalseren durchgeführt wurden, schien es wünschenswert, eine weitere Gruppe von Normalseren auf die Lokalisation einer Gm-Gruppeneigenschaft zu untersuchen. Daraus ergab sich die Fragestellung, ob die Gm(a)-Eigenschaft in jedem Falle auf der "F"-Komponente von isolierten individuellen normalen γ -Globulinen zu finden sei.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Seren wurden aus Blutkonserven (der Blutbank der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn) gewonnen.

2. Serumgewinnung.

Eine A C D - Plasmakonserve wurde 40 ' bei 2000 x G zentrifugiert und das Plasma vom Blutkuchen getrennt. Danach wurde zu je einer Probe von 2 ml Plasma 0,1, 0,2 oder 0,4 ml einer 5%-igen CaCl_2 -Lösung zugesetzt und bei 37°C diejenige Probe ermittelt, in der die Gerinnung am schnellsten eintritt. 5%-ige CaCl_2 -Lösung wurde dann dem Plasma in der entsprechenden Menge zugesetzt, danach die Gerinnung bei 37°C durchgeführt und nach 1 Stunde das Fibringerinnsel mit einem Glasstab zerkleinert und abzentrifugiert. Das überstehende Serum wurde zur Gewinnung des γ -Globulins benutzt.

3. Der Haemagglutinations-Hemntest

(in Anlehnung an Harboe und Lundevall (25)) zur Bestimmung der Gm-Gruppen-Zugehörigkeit.

Humane Rh-positive Erythrozyten (cDE/cæ) aus ACD-Stabilisatorblut wurden dreimal mit 0,15 m NaCl-Lösung gewaschen und dann ein Volumen Zellsediment mit 10 Volumen der entsprechenden Verdünnung eines Anti-D-Serums zwei Stunden bei 37°C inkubiert. Dann wurden die sensibilisierten Erythrozyten dreimal gewaschen und eine 1%-ige Suspension durch Verdünnung hergestellt. Als Ant-Gm-Reagine kamen ausgesuchte Seren von Patienten mit primär-chronischer Polyarthritits (Ragg-Seren, Steinberg (47)) zur Anwendung. Die optimale Verdünnung

dieser Seren für die Gm-Gruppen-Bestimmung war vorher mit Hilfe der zweidimensionalen Blocktitration nach H a r b o e (27) bestimmt worden. Die folgenden Systeme wurden zur Bestimmung verwandt:

Gm(a): Anti-D Nr. 3, Ragg. Ro.: 1:64

Gm(x): Anti-D Schr., Ragg. Ha.: 1:32

Die Testsysteme für Gm(a) und Gm(x) wurden in einer Gruppe gemeinsam getesteter Normalseren mit den von Dr. M. H a r b o e , Oslo, und Dr. R o p a r t z , Rouen, verwendeten Seren verglichen.

Je ein Tropfen verdünntes Probandenserum (bei den Fraktionen: 1 Tropfen verdünnter Fraktion), verdünntes Ragg.-Serum und einprozentige sensibilisierte Erythrozytensuspension wurden in Plastikträgern (Disposo - Trays Model 96 U-CV der Firma Linbro Chemical Co., New Haven, Conn., USA) auf einer Schüttelmaschine (Fa. Fritz Kniese, Marburg/Lahn-Marbach) langsam 30 Minuten zirkulär geschüttelt. Anschließend erfolgte die Ablesung in den Agglutinationsgraden 0, +, ++, +++, ++++ . Bei Hemmung in diesen Systemen war die betreffende Gm - Eigenschaft vorhanden, bei Agglutination fehlte sie.

4. γ -Globulingewinnung.

a) Rohpräparat. Das Serum wurde mit einer gleichen Menge 0,15 m NaCl versetzt und auf pH 7,0 eingestellt. Bei Kühlraumtemperatur wurde eine das γ -Globulin enthaltende Fraktion bei 45 Vol%-iger Ammoniumsulfatkonzentration ausgefällt. Sämtliche Reagenzien waren auf pH = 7,0 eingestellt. Das Präzipitat wurde danach in einer geringen Menge 0,15 m NaCl aufgenommen und gegen Veronal-NaCl-Puffer pH = 7,6 für 72 Stunden dialysiert. Anschließend wurden die denaturierten Lipoproteine in der Ultrazentrifuge bei 65900 x G für 25 Minuten abflotiert. Das gelöste Rohpräzipitat wurde durch negative

Dialyse gegen Luviskol K 30 (Riedel de Haen A.G., Hamburg) auf ca. 15 - 20 ml eingeeengt und die Gm(a)-Aktivität bestimmt.

b. Gewinnung des γ_{ss} -(sensu strictu) Globulins.

Das Rohpräparat wurde gegen 0,01 m Natriumphosphatpuffer pH = 7,6 ausgiebig dialysiert. Anschließend wurde das γ -Globulin auf DEAE-Zellulose durch einfache Chromatographie abgetrennt (14). Die erhaltene γ -Globulinfraktion wurde auf eine Menge von ca. 10-12 ml eingeeengt und erneut die Gm(a)-Aktivität nachgewiesen.

5. Gewinnung der "F"- und "S"-Bruchstücke.

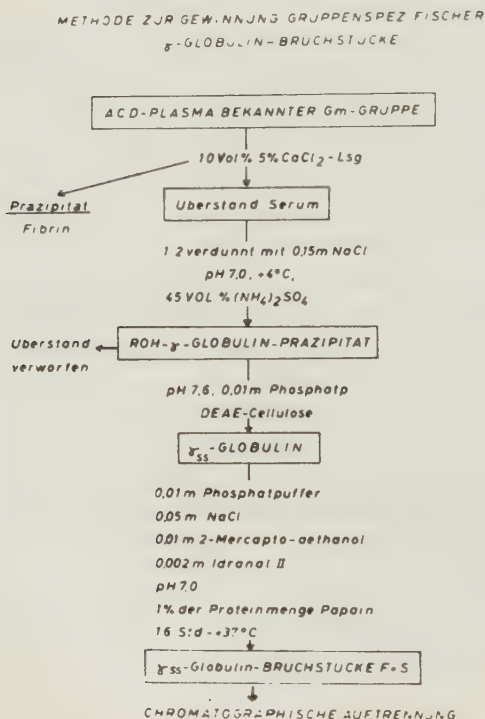
Die Papain-Hydrolyse wurde bei pH = 7,0 in Anwesenheit von 0,01 m 2-Mercapto-Aethanol und 0,002 m Idranal II^(R) in einem 0,05 m Natriumphosphat-NaCl-Puffer pH = 7,0 durchgeführt. Die Papainkonzentration (Papain 2 x crystallized Nr. 5521 - Worthington Biochemical Corp., Freehold, New Jersey) betrug jeweils 1% der vorhandenen Proteinmenge. Die Hydrolyse wurde bei 37°C unter Toluolabschluß für 16 Stunden durchgeführt und anschließend das hydrolysierte Präparat ausgiebig gegen 0,01 m Phosphatpuffer pH = 7,6 dialysiert. Danach wurde erneut die Gm-Aktivität nachgeprüft.

Das hydrolysierte Präparat wurde dann nach der Methode von F r a n k l i n (15) weiter in die Vorfraktion I und II auf CM-Zellulose, diese jeweils wieder in 2 Fraktionen auf DEAE-Zellulose getrennt. Anstelle von 0,01 m Puffern wurden 0,005 m Na- bzw. 0,005 m K-Phosphatpuffer benutzt (siehe Tabelle 1 + 2).

6. Immunelektrophorese.

Diese wurde in Anlehnung an S c h e i d e g g e r s Mikromethode (41) in der Modifikation nach H e r e m a n s (29) durchgeführt. Als Antiseren kamen Plasmaprotein-Antiseren der Behringwerke AG, Marburg/Lahn, zur Anwendung. Nach Entwicklung, Elution der nicht präzipitierten Serumproteine und anschließender Trocknung wurden die Präzipitatbanden mit Azocarminlösung gefärbt.

Tabelle 1. Schematische Darstellung der Methode der γ -Globulin-Gewinnung.



7. Proteinbestimmungen.

Diese wurden nach der Methode von Folin-Ciocalteu vorgenommen (32). Sämtliche Angaben beziehen sich auf eine Standardkurve, die mittels Mikro-Kjeldahl-Doppelbestimmungen mit mehrfach rekristallisiertem Albumin "reinst" (Behringwerke AG, Marburg/Lahn) angesetzt wurde. Die Konzentration von γ -Globulinen wurde mit einer γ -Globulin-Standardkurve, welche unter identischen Bedingungen mit Hilfe von γ -Globulin "Behringwerke" aufgestellt worden war, ermittelt.

III. ERGEBNISSE

1. Methodische Untersuchungen.

In dem Bestreben, möglichst reine Fraktionen zu erhalten, wurden verschiedene Puffersysteme zur chromatographischen Darstellung der γ -Globulin-Bruchstücke benutzt. Dabei wurden Na-Phosphatpuffer, K-Phosphatpuffer und eine Kombination von K- und Na-Phosphatpuffern verwandt. Die immunoelektrophoretische Analyse ergab, daß sich in keinem Falle entscheidende Vorteile boten. In einigen Untersuchungen schien die zuletzt gewählte Kombination von Na-Phosphatpuffer für CM-Zellulose- und K-Phosphatpuffer für DEAE-Zellulose-Chromatographie am vorteilhaftesten zu sein. Als Kriterium der Brauchbarkeit eines bestimmten Puffersystems wurde die immunoelektrophoretische Reinheit der erhaltenen Fraktionen angesehen. Mit Trispuffer wurden keine guten Ergebnisse erzielt.

Tabelle 3. Lokalisation der Gm(a)-Eigenschaft in individuellen γ -Globulinen und γ -Globulin-Bruchstücken.

LOKALISATION DER Gm(a)-DETERMINANTEN AUF DER
F-KOMPONENTE

NAME	Gm-GRUPPE	γ_{SS} -GLOB	HYDROL γ -GLOB	I	II	A	B	C
1 SEU.	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
2 MI.	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
3 VOL	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
4 KREU	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
5 SPA.	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
6 FISCH.	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
7 HÖP I	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
8 HÖP II	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
9 LIE. I	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
10. LIE. II	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
11 MÜ. I	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
12. MÜ. II	a + x -	+	+	+	-	-	+	-
13 BE.	a - x -	-	-	-	-	-	-	-

+ = HEMMUNG = Gm-AKTIVITÄT

- = KEINE HEMMUNG = KEINE Gm-AKTIVITÄT

Tabelle 4. Titration von individuellen Gm(a+)-"F" -
Komponenten (= B-Fraktionen) in spezifischem
Gm(a) Testsystem.

Individuelle B - Fraktion	2	1	0,5	0,25	0,125	mg/ml
1. San	-	-	-	-	±	
2. Min	-	-	-	-		
3. Spa	-	-	-	±		
4. Fisch	-	-	-	-		
5. Höpp I	-	-	-	-		
6. Lieb I	-	-	-	±		
7. Mü I	-	-	-	-		
8. Höpp II	-	-	-	-		
9. Lieb II	-	-	-	-		
10. Mü II	-	-	-	±		
11. Völ	±	±	±	-		
12. Kreu	-	-	+	(++)	++	
13. Be	++++	++++	++++	++++	++++	

2. Lokalisation der Gm(a)-Eigenschaft auf der F-Komponente

Mit Hilfe der angegebenen Methoden wurden 12 individuelle γ -Globulin-Präparate von 9 Gm(a+) Individuen, sowie 1 Präparat von einem Gm(a-) Individuum untersucht. Die Abbildungen 1 und 3 zeigen jeweils die chromatographische Abtrennung der Fraktionen. Hierbei fanden sich in der Vorfraktion I jeweils sowohl "F"- als auch "S"-Komponente, in der Vorfraktion II jedoch nur "S"-Komponente.

Abbildung 1. Chromatographische Trennung der γ_{SS} -Globulin Fragmente eines Gm(a)-Serums.

1. Trennung des Papain-Hydrolysats in Vorfraktion I und II auf CM-Zellulose.
2. Auftrennung von Vorfraktion I in Fraktion A und B.
3. Auftrennung von Vorfraktion II in Fraktion C und D, jeweils auf DEAE-Zellulose.

Abzisse: Aufgefangene Fraktionen.

Ordinate: Relative Proteinkonzentration.

Absorption bei 280 m μ . Pfeil: Pufferwechsel.
Elution: 0,01 m Na-Phosphat-Puffer pH = 7,6 für Vorfraktion I + II. 0,005 m Na-Phosphat-Puffer für Fraktion A, B, C und D.

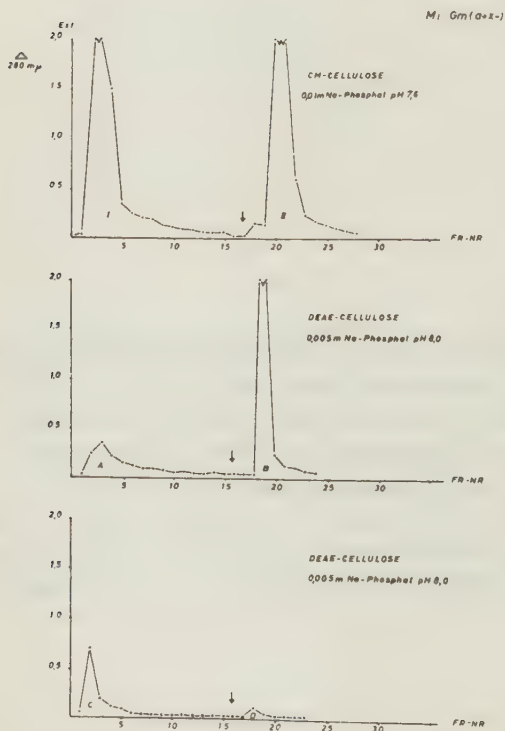
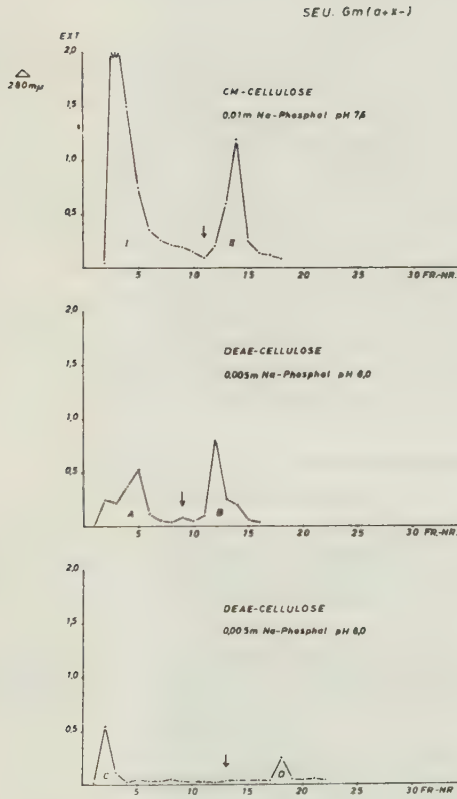


Abbildung 3. Legende siehe Abb. 1



Abbildungen 2 und 4. Immunelektrophoretische Kontrollen der Chromatographiefraktionen.

a h S K S = Anti-Humanserum-Kaninchenserum

a h γ K S = Anti- γ_{ss} -Globulin-Kaninchenserum

Wanderungsrichtung: v.links n.rechts

Immunelektrophorese zu Abb. 3

a h S K S



Gesamtprotein

γ_{ss} -Globulin

a h γ K S



γ_{ss} -Hydrolysat

Fraktion B

a h γ K S



γ_{ss} -Hydrolysat

Fraktion A

a h γ K S



γ_{ss} -Hydrolysat

Fraktion C

Immunelektrophorese zu Abb.1

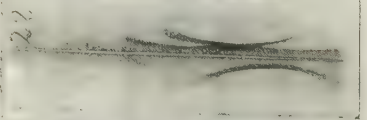
a h γ K S



γ_{ss} -Globulin

γ_{ss} -Hydrolysat

a h γ K S



γ_{ss} -Hydrolysat

Fraktion A

a h γ K S



γ_{ss} -Hydrolysat

Fraktion B

a h γ K S



γ_{ss} -Hydrolysat

Fraktion C

Die von F r a n k l i n beschriebene D-Fraktion, welche aus Verunreinigungen und Resten nicht verdauten γ -Globulins bestehen soll (15), war in unseren Präparaten in jedem Falle von sehr geringer Konzentration, aufgrund dessen ihre immunoelktrophoretische Charakterisierung nicht möglich war. Die Auftrennung der Vorfraktion I in die Fraktionen A und B zeigte, daß die Fraktion B in jedem Falle weitgehend gereinigte "F"-Komponente enthielt. In den meisten Fällen enthielt die Fraktion A isolierte "S"-Komponente, die jedoch in einigen Präparaten mit einem geringen Anteil "F"-Komponente verunreinigt war. Die Fraktion C aus Vorfraktion II enthielt in jedem Falle reine isolierte "S"-Komponente (Abbildung 2 + 4).

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, konnte die im Serum, im γ -Globulin sowie im hydrolysierten γ -Globulin nachweisbare Gm(a)-Eigenschaft in jedem Falle zunächst auf der Vorfraktion I und nach weiterer Auftrennung in der Fraktion B aufgefunden werden. Die Fraktion C enthielt in keinem Falle Gm(a)-Aktivität. In Fraktion A war nur dann Gm(a)-Aktivität nachzuweisen, wenn eine Verunreinigung durch "F"-Komponente vorhanden war. Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse des Haemagglutinations-Hemmungstests mit den einzelnen B-Fraktionen. Hierbei wurde eine Konzentration von 2 mg/ml einer Serumverdünnung von 1:8 gleichgesetzt, sodaß eine Serumverdünnung von 1:32 einer Konzentration von 0,5 mg/ml entsprach. Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich, war in jedem Falle eine eindeutige Hemmung der Agglutination nachzuweisen. Die entsprechende B-Fraktion des Kontrollpräparates BE (Gm(a-)) zeigte dagegen keinerlei Aktivität.

IV BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die hier vorgelegten Untersuchungen zeigen in Übereinstimmung mit den bisher veröffentlichten Untersuchungen von Harboe und Mitarbeitern (28), Franklin und Mitarbeitern (17) und Deicher (6,10), daß die Serumgruppeneigenschaft Gm(a) regelmäßig auf einem Bruchstück des γ -Globulins, der sogenannten "F"-Komponente lokalisiert ist. Dieser Befund wurde an 9 Seren ohne Ausnahme erhoben. Bei einem Gm(a-)Serum fand sich die Eigenschaft ebenfalls nicht auf dem "F"-Bruchstück. Die bisher veröffentlichten Untersuchungen mehrerer Autoren haben gezeigt, daß auch andere Gm-Gruppeneigenschaften auf der "F"-Komponente des γ -Globulins vorhanden sind, während die InV-Gruppeneigenschaften auf der sogenannten "S"-Komponente lokalisiert werden konnten (17, 28). Da aufgrund formalgenetischer Untersuchungen (20) die Gm- und InV-Gruppen zwei verschiedenen, voneinander unabhängigen genetischen Loci zugeordnet werden können, erscheint damit gesichert, daß zwei biochemisch charakterisierbare Anteile des γ -Globulinmoleküls einer getrennten genetischen Kontrolle unterliegen.

Die durch die Papain-Hydrolyse gewonnenen "F"- und "S"-Komponenten unterscheiden sich hinsichtlich der Aminosäurezusammensetzung und des Kohlehydrat-Anteils. Eine Reihe von biologischen Eigenschaften, die für das Gesamt-molekül des γ -Globulins charakterisiert sind, konnten jeweils einer der beiden Komponenten zugeordnet werden (13): Komplementfixation, Gewebsbindung und Reaktion mit γ_{1M} -Rheumafaktoren der "F"-Komponente (9), die Kreuzreaktion mit den anderen Proteinen des γ -Globulinsystems der "S"-Komponente. Nach neueren Untersuchungen

von E d e l m a n und Mitarbeitern (12, 34), sowie von P o r t e r und Mitarbeitern (36) entsprechen die durch Papain-Hydrolyse gewonnenen "F"- und "S"-Bruchstücke jedoch nicht den Peptidketten, aus denen das γ -Globulinmolekül zusammengesetzt ist. Mit rein chemischen Methoden lassen sich vielmehr 2 typische Polypeptidketten voneinander trennen. Die sogenannte A- oder H-Kette hat ein Molekulargewicht von etwa 52 000, trägt den gesamten Kohlehydrat-Anteil des γ -Globulinmoleküls und jedenfalls bei einigen Pferdeantikörpern den größten Teil der Antikörper-Spezifität. Die B- oder L-Ketten, welche ein Molekulargewicht von etwa 20 000 besitzen, sind dagegen sehr kohlehydratarm, bestimmen die Antikörper-Spezifität teilweise mit und zeigen chemisch eine enge Verwandtschaft zu den Bence-Jones-Proteinen, wie sie bei Myelom-Patienten im Urin erscheinen. Zwischen diesen chemisch gewonnenen Bruchstücken einerseits und den Papain-Hydrolyse-Produkten andererseits bestehen enge Beziehungen: die "F"-Komponente besteht aus einem großen Bruchstück der H- (A-) Kette, während die "S"-Komponente aus dem verbleibenden Anteil der H- (A-) Kette und jeweils einer L- (B-) Kette besteht. Nach den von P o r t e r (36) veröffentlichten Modellvorstellungen besteht das γ -Globulinmolekül aus vier Peptidketten, nämlich jeweils zwei H- (A-) und zwei L- (B-) Ketten, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Mit einer neuen Trennungsmethode gelang es P o r t e r (36) kürzlich, auch diesen chemisch gewonnenen Bruchstücken Aktivitäten zuzuordnen.

Determinanten der L-Ketten und der "S"-Komponenten sind für die Kreuzreaktion der verschiedenen Immunglobuline des γ -Globulinsystems untereinander verantwortlich (16).

Alle drei Immunglobuline (γ_{ss} , γ_{1A} , γ_{1M}) besitzen InV-Gruppeneigenschaften (16), während die Gm-Gruppeneigenschaften sich lediglich auf den γ_{ss} -Globulinen finden (6). Es besteht daher Grund zu der Annahme, daß L-Ketten in allen drei Immunglobulinen in der gleichen Weise vorkommen, sodaß der spezifische Unterschied (und damit auch die spezifischen Determinanten) in den H-Ketten bzw. ihnen entsprechenden Einheiten bei den

γ_{1M} - und γ_{1A} -Globulinen zu suchen sind. F u d e n b e r g , F r a n k l i n und H e r e m a n s (20) haben die Forderung aufgestellt, daß sich entsprechend den Gm-Gruppen der γ_{ss} -Globuline genetische Varianten auch bei den γ_{1A} - und γ_{1M} -Globulinen finden müssen. Aufgrund dieser Überlegungen sind sie zu einer neuen Hypothese der genetischen Grundlage der verschiedenen Antikörper-Mangelsyndrome gekommen: während eine Mutation bzw. Suppression im Bereich der Gm-Gruppengene nur ein Fehlen des γ_{ss} -Globulins, eine Veränderung im Bereich der entsprechenden Gruppengene der anderen γ -Globuline jeweils nur ein Fehlen des individuellen γ -Globulins zur Folge haben wird, wird eine genetische Veränderung im Bereich des InV-Locus alle drei Proteine betreffen und so zu einer echten Agammaglobulinaemie mit Fehlen sämtlicher drei Immunglobuline führen. Beispiele für die verschiedenen Typen des Antikörper-Mangelsyndroms sind in der Literatur bereits veröffentlicht (4, 21, 22, 37, 51).

Über die genaue biochemische Grundlage der γ -Globulin-Gruppenmerkmale wissen wir noch wenig. Die bisher erhaltenen Bruchstücke sind zu groß, die γ -Globuline insgesamt zu heterogen, als daß hier bereits zu der Frage

Stellung genommen werden könnte, ob es sich etwa um Unterschiede in der Aminosäuresequenz oder ausschließ-lich oder vorwiegend um solche der Tertiärstruktur han-delt. Im Prinzip muß sich eine spezifische Antigen-Antikörperreaktion in jedem Falle auf eine relativ um-grenzte Antigendeterminante zurückführen lassen, wie es von K a b a t (31) für Dextrane und von C e b r a und Mitarbeitern (5) für Seidenribroin bereits gezeigt worden ist. Neuere Untersuchungen von F u c h s und S e l a (19) zeigen dieses ebenfalls an synthetischen Polypeptiden.

Erste Ansätze einer chemischen Strukturanalyse der Gm-Gruppen-Determinanten finden sich in den Untersu-chungen von F r a n k l i n und M e l t z e r (18), die bestimmte Peptide einzelnen Gm-Gruppen zuordnen konnten. Danach scheint auch im Falle der γ -Globulin-Gruppen eine echte chemische Repräsentanz der Gruppen-unterschiede vorzuliegen.

V ZUSAMMENFASSUNG

An 9 normalen Gm(a+) γ -Globulinen wurde die Lokalisation der Gm-Gruppeneigenschaft Gm(a) auf der "F"-Komponente dieses Proteins bestätigt. Isolierte Komponenten von einem Gm(a-) γ -Globulin zeigten keinerlei Gm-Gruppenspezifität. Durch diese Untersuchungen erhält die These, daß verschiedene Anteile des γ -Globulins durch Gene voneinander unabhängiger Loci determiniert werden, weitere experimentelle Begründung.

Die Bedeutung dieser Befunde für die Chemie der Antikörperproteine und für die Antikörper-Mangelsyndrome wird eingehend diskutiert.

VI LITERATURVERZEICHNIS

1. Allison, A.C., Blumberg, B.S., An isoprecipitation reaction distinguishing human serum-protein types. *Lancet* I, 634, 1961
2. Berg, K., A new serum type system in man - the L p system. *Acta path. microbiol. Scand.* 59, 369, 1963.
3. Brandtzaeg, B., Fudenberg, H. und Mohr, J., The Gm(r) serum group. *Acta genet.* 11, 170, 1961
4. Bridges, R.A., and Good, R.A., The Immunelectrophoretic Characterization of Agamma-Globulinemie States. *J. Lab. and Clin. Med.* 54, 794, 1959.
5. Cebra, Joh. J., Studies on Combining Sites of the Protein Antigen Silk Fibroin. III. Inhibition of Silk Fibroin Antifibroin System by Peptides from Antigen. *J. Immunol.* 86, 205, 1961
6. Deicher, H., Lokalisation der erblichen Determinante Gm(a) auf einem Gamma-Globulin Fragment. *Klin. Wschr.* 40, 19, 1962
7. Deicher, H., Frequenz von Gm-Gruppen in Westdeutschland. *Klin. Wschr.* 40, 655, 1962
8. Deicher, H., Wendt, G.G., Oepen, H., Beitrag zur Kenntnis der Serumfaktoren Gm(b), Gm(x) und Gm(r). *Vox Sang.* 8, 328, 1963
9. Deicher, H., Die immunologische Spezifität der Rheumafaktoren der primär-chronischen Polyarthrititis. *Klin. Wschr.* 42, 313, 1964
10. Deicher, H., Lokalisation mehrerer Gm-Gruppen auf demselben γ -Globulin Fragment. *Klin. Wschr.* 40, 379, 1964
11. Edelman, G.M., Heremans, J.J., Heremans, M.-Th., and Kunkel, H.G. Immunological Studies of Human Gamma-Globulin. Relation of the Precipitation Lines of Whole Gamma-Globulin to those of the Fragments Produced by Papain. *J. Exp. Med.* 112, 203, 1960

12. Edelman, G.M., and Poulik, M.D., Studies on structural Units of the Gamma-Globulin
Exp. Med. 113, 861, 1961
13. Edelman, G.M., and Benacerraf, B., On structural and functional relations between antibodies and proteins of the Gamma-system.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1035, 1962
14. Fahey, J.L., McLoey, R.F., and Goulian, H., Chromatography of serum proteins in normal and pathologic sera: The distribution of protein-bound carbohydrate and cholesterol, siderophilin, thyroxin-binding protein, B₁₂-binding protein, alkaline and acid phosphatases, radioiodated albumin and myeloma proteins. J. Clin. Invest. 37, 272, 1958
15. Franklin, E.C., Structural units of human γ S Gamma-Globulin. J. Clin. Invest. 39, 1933, 1960
16. Franklin, E.C., Stanworth, D.R., Antigenic Relationship between Human Globulins and Certain Related Paraproteins in Man. J. Exp. Med. 114, 521, 1961
17. Franklin, E.C., Fudenberg, H., Meltzer, M., and Stanworth, D.R., The structural Basis for Genetic variations of normal Human Gamma-Globulins. Proc. Nat. Acad. Science 48, 914, 1962
18. Franklin, E.C., Fudenberg, H., Martensson, L., Meltzer, M. and Stanworth, D. R., The Gamma-Globulin Groups in Man - Their Structural Basis and Biologic Significance. Immunopathology III. International Symposium. Schwabe & Co. Verlag, Basel/Stuttgart
19. Fuchs, S., Sela, M., Studies on chemical basis of the antigenicity of proteins. 6. Antigenic specificity of some synthetic polypeptides containing tyrosin. Biochem. J. 87, 70, 1963
20. Fudenberg, H., Heremans, J.F., and Franklin, E.C., A Hypothesis for genetic control of synthesis of Gamma-Globulin. Annales de l'Institut Pasteur 104, 155, 1963

21. Giedèon, A., und Scheidegger, J.J., Kongenitale Immun-
parese bei Fehlen spezifischer β_2 -Globuline
und quantitativ normalen Gamma-Globulinen.
Helvetia paediatrica acta 12, 241, 1957
22. Grabar, P., Burtin, P. und Seligmann, M., Etudes immuno-
electrophoretiques et immunochimiques de
agammaglobulinemies. *Rev. franç. étud.clin. et
biol.* 2, 41, 1958
23. Grubb, R., Agglutination of erythrocytes coated with
incomplete anti-Rh by certain rheumatoid arthri-
tic sera and some other sera. The existence
of human serum groups. *Acta path. microbiol.
scand.* 29, 195, 1956
24. Grubb, R., The Gm-groups and their relation to rheu-
matoid arthritis serology.
Arthr. and Rheum. 4, 195, 1961
25. Harboe, M., and Lundevall, J., A new type in the Gm-
system. *Acta path. microbiol. scand.* 45, 357,
1959
26. Harboe, M., A new hemagglutination substance in the
Gm-system, Anti-Gm(b). *Acta path. microbiol.
scand.* 47, 191, 1959
27. Harboe, M., Quantitative studies on the hemagglutination
inhibition reaction for determination of the
Gm-types. *Acta path. microbiol. scand.* 47, 199,
1959
28. Harboe, M., Osterland, C.K., Kunkel, H.G.,
Localization of two genetic factors to different
areas of gamma-globulin molecules.
Science 136, 979, 1962
29. Heremans, J., Les Globulins Sériques Du Système Gamma.
Editions Arscia S.A., 1960 rue de l'Etuve,
Bruxelles.
30. Hirschfeld, J., Immune-electrophoretic demonstration
of qualitative differences in human sera and their
relation to the haptoglobins. *Acta path. micro-
biol. scand.* 47, 160, 1959
31. Kabat, E.A., The upper limit for the size of the human
antidextran combining-site.
J. Immunol. 84, 82, 1960
32. Kunkel, H.G., In methods of biochemical analysis.
Interscience 1, 141, 1954

33. Kunkel, H.G., Allen, J.C., Antibodies to Genetic Types of Gamma Globulin after Multiple Transfusions. Science 139, 418, 1963
34. Olius, D.E., and Edelman, G.M., The antigenetic structure of the polypeptid chains of human Gamma-Globulin. J.Exp.Med. 116, 635, 1962
35. Porter, R.R., The hydrolysis of rabbit Gamma-Globulin and antibodies with crystalline papain. Biochem. J. 73, 119, 1959
36. Porter, R.R., Chemical Structure of Gamma-Globulin and antibodies. British Medical Bulletin; Antibodies 19, 197, 1963
37. Roockey, J.H., and Kunkel, H.G., Unusual Sedimentation and Sulfhydryl Sensitivity of Certain Iso-hemagglutininins and Skin-Sensitizing Antibody. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 110, 101, 1962
38. Ropartz, C., Lenoir, J., and Rivat, L., A new inheritable property of human sera: The InV-factor. Nature (Lond.) 189, 586, 1961
39. Ropartz, C., Rivat, L., et Rousseau, P.Y., Deux nouveaux facteurs dans les systèmes héréditaires de gamma-globulin. Le Gm(e) et l'InV(1). Schriftl. Mitteilung 1962
40. Ropartz, C., Rivat, L., Rousseau, P.Y., Baitsch, H., et Van Loghem, J., Les Systèmes Gm et InV en Europe. Acta genet. Basel. 13, 109, 1963
41. Scheidegger, J.J., Une micro-methode de l'immuno - électrophorèse. Int.Ard.Allergy 7, 103, 1955
42. Smithies, O., Walker, W.F., Genetic control of some serum proteins in normal humans. Nature 176, 1265, 1955
43. Smithies, O., Variations in human serum γ -globulin. Nature 180, 1482, 1957
44. Smithies, O., Third allele at the serum γ -globulin locus in humans. Nature 181, 1203, 1958

45. Steinberg, A.G., Gibs, B.D., and Stauffer, R.A.,
Gm-like factor present in negroes and rare or
absent in whites. Its relation to Gm(a) and
Gm(x). Amer. J. Hum. Genet. 12, 44, 1960
46. Steinberg, A.G., Wilson, J.A., and Lanset, S.,
A new human Gamma-Globulin-factor determined
by an allele at the InV locus.
Vox Sang. 7, 151, 1962
47. Steinberg, A.G., Studies on the Gm Factors. Comparison
of the agglutinators in serum from patients
with rheumatoid arthritis and in serum from
healthy donors. Arthr. and Rheum. 4, 195, 1961
48. Thomas, K., und Kampf, G., Die vererbaren Gm-Serum=
eiweißgruppen - ein neuer Faktor, Gm-Dresden,
in diesem System. Dtsch.Gesundh.Wes. 16, 1185,
1961
49. Waller, M., Hughes, R.D., New Serum Group, Gm(p)
Science 142, 1321, 1963
50. Wendt, G.G., Deicher, H., von Koppenfels, J., und Puls, D.
Der Gamma globulinfaktor Gm(a) und seine Anwen=
dung im Vaterschaftsgutachten.
Z. Morph. Anthropol. 54, 216, 1963
51. Wuhrmann, F., und Marki, H.H., Dysproteinaemien und
Paraproteinaemien, 1963, Schwabe & Co., Verlag,
Basel/Stuttgart.

VII LEBENS LAUF

Am 17. VIII. 1937 wurde ich als zweites von sechs Kindern des Lehrers August Winkelhoff aus Hildesheim und dessen Ehefrau Maria, geb. Böhrer, aus Borgholz Krs. Höxter, zu Paderborn geboren. Meine derzeitige Wohnungsanschrift ist 355 Marburg/Lahn, Behringweg 2, Dr. Carl Duisberg-Haus; meine derzeitige Heimatanschrift ist 4791 Wewer bei Paderborn Nr. 370.

Von 1943 bis 1948 besuchte ich die kath. Volksschule zu Pömbßen Krs. Höxter. Dann das Progymnasium in Bad Driburg, das König-Wilhelm-Gymnasium in Höxter und den naturwissenschaftlichen Zweig des Städtischen Neusprachlichen Gymnasiums zu Paderborn, wo ich am 4. März 1959 mein Abitur ablegte. Der häufige Schulwechsel war bedingt durch den Stellenwechsel meines Vaters. Mit Beginn des SS 1959 wurde ich an der Philipps-Universität Marburg/Lahn immatrikuliert. Am 8. März 1960 legte ich dort das Vorphysikum und am 26. Oktober 1961 das Physikum ab. Zwei weitere Semester blieb ich noch in Marburg/Lahn und wechselte zum WS 1962/63 an die Friedrich - Alexander - Universität in Erlangen und zum SS 1963 an die Christian - Albrechts - Universität in Kiel über. Zum WS 1963/64 kam ich erneut an die Philipps-Universität Marburg, um dort mein Studium zu beenden und das Staatsexamen der Medizinischen Fakultät am 18.5.1967 abzulegen.

VIII Meine AKADEMISCHEN LEHRER waren die Herren Professoren und Dozenten

in Marburg/Lahn:

Beckmann, Berendes, Bickel, Bock, Braun-Falco, Bücher, Deicher, Dittrich, Dimroth, Dölle, Gedigk, Golenhofen, Groß, Hamm, F. Hartmann, Hensel, Hildebrand, Hornung, Huber, Kessler, Pater Koch, Lang, Linneweh, Mahr, Mattes, Martini, Marx, Meyer, Müller, Neubauer, Niessing, Oehme, Oehmig, Oksche, Petry, Sauer, Seidel, Schleyer, Schmid, Schmitz, Schrappe, Schwaiger, Siegert, Siess, Stein, Straub, Streicher, Vogt, Walcher, Wendt, Würterle

in Erlangen / Bayern:

Gräf, Hackethal, Hegemann, Hövels, Knorr, Ober, Steinhardt, Stobel, Thomas, Weishaar, Windorfer;

in Kiel:

Bernsmeier, Hallermann, Müller, Proppe, Störriing, Walther, Wiedemann.

